(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Basel
[Vorsteher: Prof. Dr. R. Meier].)

Über die Wirkung einiger antibakterieller Substanzen am Froschherz und ihre Beeinflußbarkeit durch Antagonisten

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Jacopo Janner

aus Bosco-Gurin (Tessin)

1948

VERLAG VON S. KARGER IN BASEL

Von der Medizinischen Fakultät der Universität Basel
genehmigt auf Antrag von Herrn Prof. Dr. R. Meier

Tag der Promotion: 20. Juni 1947

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus „Schweizerische Zeitschrift für
Pathologie und Bakteriologie“ Vol. XI, Nr. 4 (1948)

Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus von Desinfizientien und Chemotherapeutica, die von der Voraussetzung ausgehen, daß die antibakteriellen Stoffe mit bestimmten lebensnotwendigen Stoffwechselprozessen der Mikroorganismen interferieren, haben in neuerer Zeit interessante Anhaltspunkte für eine Vorstellung über ihre Wirkungsweise ergeben. Besonders aufschlußreich war die Entdeckung spezifischer, die antibakterielle Wirkung aufhebender Inhibitoren oder Antagonisten.

Die Hemmung der bakteriostatischen Wirkung des Sulfanilamids auf Bakterien durch die p-Aminobenzoesäure (*Woods,* 1), die antagonistischen Wirkungen der Sulfhydrilkörper (Cystein, Glutathion, Thioessigsäure) gegen die Desinfektionswirkung des Sublimats (*Fildes,* 2), der Phosphatide gegen die Wirkung der Invertseifen (*Baker,* 3), der Nucleinsäure und der Adenylsäure gegen diejenige der Aminoakridine (*McIlwain,* 4); (*Massart, Peeters, de Ley, Vercauteren,* 5) und der Diamidine (*Bichowski,* 6), sowie der Antagonismus der Pantothensäure gegen die antibakterielle Wirkung der Salicylsäure (*Ivanovics,* 7) seien als Beispiele erwähnt.

Bei einem Teil dieser Antagonismen könnte die Beziehung zwischen Desinfiziens und Antagonist im einfachsten Falle in einer chemischen Reaktion bestehen, bei der in einem bestimmten «stöchiometrischen» Verhältnis der beiden Teile eine inaktive Verbindung in vitro entsteht. Diese Reaktion könnte insofern als Modellvorstellung für den Wirkungsmechanismus gewisser Desinfizientien gegenüber Mikroorganismen dienen, als die entsprechenden Antagonisten (Phosphatide, Nucleinsäuren, Sulfhydrilkörper) in der lebenden Zelle auch vorkommen. Der Überschuß

des Antagonisten im umgebenden Medium würde dann einfach das Desinfiziens unwirksam machen, d. h. eine entsprechende bakterizide oder bakteriostatische Reaktion in oder an der Bakterienzelle verhindern.

In denjenigen Fällen aber, wo schon ganz geringe Konzentrationen des Antagonisten (p-Aminobenzoesäure, Pantothensäure) wesentlich höhere Konzentrationen des bakteriostatischen Mittels (Sulfanilamid, Salicylsäure) unwirksam machen, spielt sich die Reaktion, die viel spezifischer ist, nur in vivo und nur an bestimmten Versuchsobjekten ab.

Von *R. Meier* (8) wurde für die allgemeine pharmakologische Beurteilung der antibakteriellen Wirkung im tierischen Organismus die Frage erörtert, wieweit die differente Reaktionsweise der Chemotherapeutika und Desinfektionsmittel mit den Zellen des tierischen Organismus und den Bakterien an Hand antagonistischer Reaktionen analysiert werden können. Diese Frage ist ein Teil des besonders wichtigen Problems, ob die Spezifität einer Wirkung, die die Möglichkeit einer chemotherapeutischen Anwendung ergibt, durch einen besonders gearteten Reaktionsmechanismus am Bakterium gekennzeichnet ist. Grundlage für die Untersuchungsrichtung und für die Wahl des Untersuchungsobjektes ist die Angabe von *R. Meier,* daß die Giftwirkung bestimmter Desinfektionsmittel sich vor allem an bestimmten lebenswichtigen Organen, z. B. am Herz, auswirkt. Weiterhin wurde von ihm gezeigt, daß offenbar bei gewissen Desinfektionsmitteln wie Sublimat und Invertseife am isolierten Froschherz qualitativ ein ähnlicher Antagonismus mit Cystein, bzw. mit Lecithin, wie bei der antibakteriellen Wirkung vorliegt. Es sollte deshalb untersucht werden, ob sich die Wirkung verschiedener antibakterieller Stoffe auf das isolierte Froschherz in ähnlicher oder verschiedener Weise durch die Antagonisten beeinflussen läßt, wie die antibakterielle Wirkung selber.

Eigene Versuchsergebnisse.

Methodik: Die Versuche wurden in den Monaten Dezember bis März an 30—40 g schweren Temporarien angestellt. Die Tiere wurden im Moos unter einer Schicht von Eisstücken aufbewahrt und vor der Präparation jeweils 24—48 Stunden im Arbeitsraume gehalten, in welchem eine mittlere Temperatur von 22° C herrschte. Das isolierte Herz wurde an der *Straub*schen Kanüle suspendiert. Als Spülflüssigkeit wurde *Ringer*-Lösung verwendet. Die in der Kanüle enthaltene Menge betrug immer ungefähr 1 ccm. Die zu untersuchenden Substanzen wurden in *Ringer*-Lösung gelöst und, wo es erforderlich war, mit

Natronlauge bzw. mit Salzsäure neutralisiert, wozu ein Universalindikator benützt wurde. Die für die angewendeten Konzentrationen angegebenen Zahlen beziehen sich auf g pro ccm. Es wurde im allgemeinen erstrebt, von jeder Substanz eine Dosis-Wirkungskurve zu erstellen (Fig. 1). Dies gelang jedoch nur bei Substanzen, die das Froschherz vorab auf seine Hubhöhe, möglichst wenig aber in bezug auf Rhythmik und Frequenz beeinflussen. Bei den antagonistischen Versuchen wurden prinzipiell drei Varianten ausgeführt:

1. Mischen der Substanzen im Reagenzglas vor der (gleichzeitigen) Zugabe.
2. Zugabe des antibakteriellen Stoffes nach und
3. Zugabe des antibakteriellen Stoffes vor der Zugabe des Antagonisten.

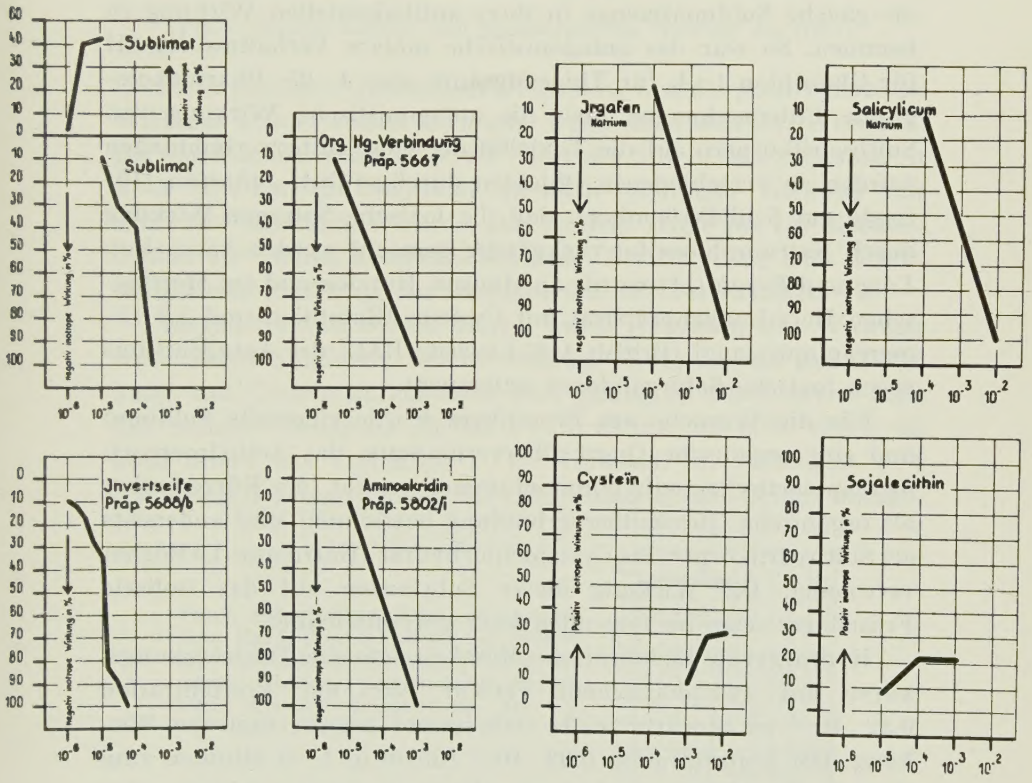

Fig. 1. Dosiswirkungskurve einiger antibakterieller Substanzen, sowie ihrer Antagonisten (sofern eine Wirkung nachweisbar ist) am isolierten Froschherz. *Ordinate:* positiv oder negativ inotrope Wirkung in Prozent der ursprünglichen Hubhöhe. *Abscisse:* Logarithmus der Konzentration im Kanüleninhalt.

Quecksilberverbindungen und Sulfhydrilgruppe.

Der Wirkungsmechanismus des Quecksilbers wurde von *Fildes* (2) in neuerer Zeit wiederum untersucht, nachdem *Voegtlin, Dyer*

und *Leonhard* (9) u. a. schon seit längerem auf die antagonistische Beeinflußbarkeit der Quecksilber- und Arsenwirkung durch die Sulfhydrilgruppe hingewiesen hatten. Im chemischen Versuch konnte *Fildes* mit Sublimat und mit verschiedenen Substanzen mit freier SH-Gruppe nachweisen, daß ein Mol Quecksilber imstande ist, zwei Mole der SH-Gruppe zu blockieren, was am negativen Ausfall der Nitroprussidnatrium-Reaktion zu erkennen ist. Im bakteriologischen Versuch hingegen (Bact. coli) brauchte er von verschiedenen Sulfhydrilkörpern verschiedene Mengen, um die gleiche Sublimatmenge in ihrer antibakteriellen Wirkung zu hemmen. So war das antagonistische molare Verhältnis Hg-SH für Glutathion 1 : 4, für Thioessigsäure aber 1 : 25. Pharmakologische Untersuchungen über die antagonistische Wirkung von Sulfhydrilkörpern auf die Toxicität der Quecksilberverbindungen wurden an verschiedenen Objekten durchgeführt. *Johnston* (10) zeigte am Schildkrötenherz, daß die toxische Salyrgan-Wirkung durch Natriumthiosulfat rückgängig gemacht werden kann. Von *Long* und *Farah* (11) wurde an Mäusen, Hunden und am *Starling*schen Herz-Lungenpräparat mit Cystein, Glutathion und 2,3 Dimercaptopropanol (British Anti-Lewisite BAL) der Antagonismus gegen toxische Salyrgandosen untersucht.

Für die Versuche am Froschherz wurde einerseits Sublimat und eine organische Quecksilberverbindung, das Aethylmercurimercaptoaethyltrimethylammoniummethosulfat (der Kürze halber als organische Quecksilberverbindung bezeichnet) und anderseits als Sulfhydrilkörper das Cysteinchlorhydrat (Hoffmann-La Roche) verwendet. Die Wirkung dieser Substanzen auf das isolierte Froschherz seien im folgenden kurz gekennzeichnet.

Hydrargyrum bichloratum «*Merck*» zeigte eine Dosiswirkungskurve mit zweiphasischem Verlauf. Von der Konzentration $0{,}32 \cdot 10^{-4}$ an abwärts zeigte sich immer negativ inotrope Wirkung. Die Konzentration $0{,}32 \cdot 10^{-3}$ führte in 1—2 Minuten zum diastolischen Stillstand. Geringere Konzentrationen als $0{,}32 \cdot 10^{-4}$ führten meist zu positiv inotroper Wirkung, seltener zu schwach negativ inotroper. Die positiv inotrope Wirkung trat erst nach 2—3 Minuten langsam ansteigend auf, nachdem manchmal eine kurze negativ inotrope Phase vorausgegangen war (Fig. 2). Sie sank erst nach mehrmaligem Spülen meist unter die ursprüngliche Hubhöhe ab. Nochmalige Zugabe von Sublimat führte zu erneutem Anstieg mit noch stärkerem Abfall nach dem Spülen.

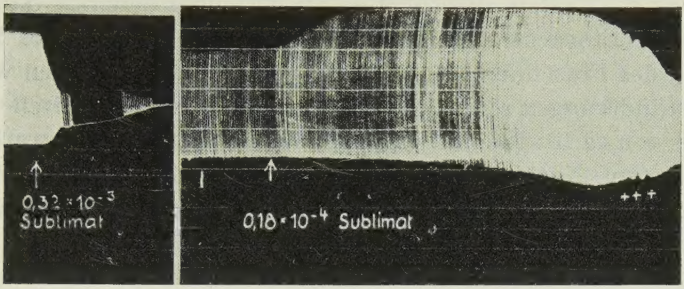

Fig. 2. Negativ inotrope und positiv inotrope Wirkung des $HgCl_2$.

Die organische Quecksilberverbindung ließ die positiv inotrope Wirkung kleiner Dosen ebenfalls, wenn auch seltener, erkennen. Bei der Konzentration $0{,}56 \cdot 10^{-3}$ trat der Stillstand in Diastole in 2—3 Minuten ein, während die erste deutliche Wirkung mit $0{,}32 \cdot 10^{-5}$ beobachtet wurde. Das Cystein zeigte bis zur Konzentration 10^{-3} keine deutliche Wirkung. Bei 10^{-2} war eine durchschnittliche Erhöhung der Hubhöhe um 30% festzustellen.

Ausgehend von diesen Daten wurde versucht, die Wirkung einer Dosis Sublimat, welche raschen Herzstillstand zur Folge hatte, mit Cystein aufzuheben. Dies gelang zu 100%, wenn man das molare Verhältnis Hg-SH 1 : 13 wählte, zu 80% wurde es noch durch das Verhältnis 1 : 7 verhindert, im Verhältnis 1 : 4 trat keine Hemmung mehr auf (Fig. 3 und 4). Die beiden antago-

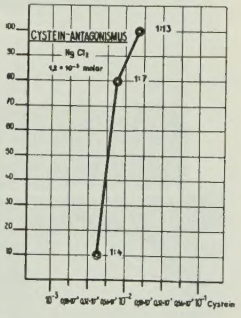

Fig. 3. Antagonismus des Cysteins gegen eine $HgCl_2$-Konzentration, die sofortigen Stillstand am Froschherz bewirken würde. *Ordinate:* Antagonismus in Prozent. *Abscisse:* Logarithmus der Cysteinkonzentration (molar).

nistischen Substanzen wurden entweder vorher gemischt und gleichzeitig gegeben, oder es wurde erst Cystein und dann Sublimat zugegeben oder umgekehrt. Unterschiede in der Hemmungswirkung des Cysteins wurden nur im letzten Falle beobachtet, wenn nicht rasch nach Eintritt des Stillstandes durch Sublimat-

wirkung das Cystein zugeführt wurde. Offenbar bewirkte die hohe Quecksilberkonzentration ziemlich rasch eine irreversible Schädigung des Froschherzens. Bei geringeren Konzentrationen waren die Veränderungen reversibel. Das gefundene antagonistische Verhältnis von ca. 1 : 10 erwies sich für verschiedene Konzentrationen als konstant. Nach unten bestand allerdings eine scharfe Grenze. So konnte die Konzentration 10^{-3} Sublimat durch die molar zehnfache Menge an Cystein nicht mehr gehemmt werden, wohl aber noch die Konzentration $0{,}7 \cdot 10^{-3}$.

Versuche mit der organischen Quecksilberverbindung ergaben ein ganz anderes antagonistisches Verhältnis. Cystein war überhaupt nicht imstande, die sofortige negativ inotrope Wirkung dieser Verbindung aufzuheben, und der antagonistische Effekt zeigte sich lediglich in einer mehr oder weniger raschen Erholung, die ohne das Cystein nicht einzutreten pflegte. Auch hier wurde eine Dosis angewendet, die einen raschen Stillstand zur Folge hat. Wurde die ca. 100fache molare Konzentration Cystein gleichzeitig zugefügt, so zeigte sich zunächst der rasche Abfall der Hubhöhe, der dann vor Eintritt des Stillstandes in einen langsamen Wiederanstieg überging, der in durchschnittlich 5 Minuten zur vollständigen Erholung führte (Fig. 4). Gab man das Cystein vor der organischen Quecksilberverbindung zu, so änderte das nichts

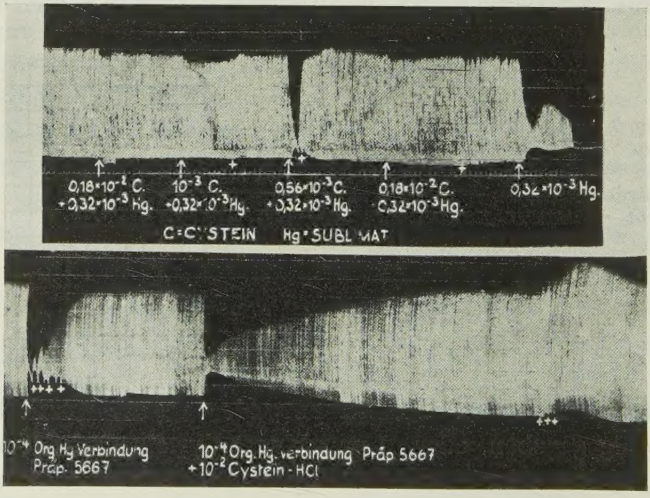

Fig. 4. Antagonismus von $HgCl_2$ und der organischen Quecksilberverbindung und Cystein.

an dem beschriebenen Verhalten. Die bereits stattgehabte Schädigung durch mittlere Dosen konnte ebenfalls durch Cystein im ungefähren antagonistischen Verhältnis 1 : 100 aufgehoben werden. Orientierende Versuche mit einer anderen organischen Quecksilberverbindung, dem basischen Phenylquecksilberborat *(Merfen)* ergaben bezüglich des antagonistischen Verhältnisses ähnliche Resultate, die Wirkung des Cysteins kam aber sofort zur Geltung und verhinderte die Beeinflussung der Hubhöhe durch die Quecksilberverbindung. Die Ursachen dieser Unterschiede bleiben unverständlich. Auffällig ist die große Verschiedenheit des antagonistischen Verhältnisses bei Sublimat und bei organischen Quecksilberverbindungen.

Invertseifen und Lecithin.

Die starke hemmende Wirkung von Phosphatiden, insbesondere von Lecithin, auf die Desinfektionswirkung der Invertseifen wurde von *Baker* (3) beschrieben. Diese Untersuchungen gingen von der Annahme aus, daß die Invertseifen, als stark oberflächenaktive Substanzen, imstande seien, die Zellmembran der Bakterien in bezug auf ihre Lipoidbestandteile zu verändern. Dieser Effekt sollte außer der von *Kuhn* und *Bielig* (12) beschriebenen proteindenaturierenden Wirkung für den Angriffsmechanismus der Invertseifen bedeutsam sein. Arbeiten über den Wirkungswandel oder die Wirkungsabschwächung verschiedenster Pharmaca in Gegenwart von Lecithin sind sehr zahlreich (vgl. die zusammenfassende Darstellung durch *Roth,* 13). Es ist anzunehmen, daß es sich bei dieser Art von Hemmung um einen physikalisch-chemischen Vorgang handelt. Es wurde versucht, die experimentellen Ergebnisse, welche von *Baker* am Gaswechsel und Wachstum von Bakterien gewonnen wurden, am Froschherz nachzuahmen. Verwendet wurde eine stark wirksame Invertseife, das Phenoxyaethyldimethyldodecylammoniumbromid und als Antagonisten teils Lecithinum puriss. ex ovo *«Merck»,* sauerstofffrei in Ampullen, teils ein Sojalecithin der Nahrungsmittel Import- und Handels AG., Zürich, welche beide die gleichen antagonistischen Eigenschaften zeigten.

Die Invertseife bewirkte in der Konzentration $0{,}32 \cdot 10^{-4}$, nach einem kurzen systolischen Anstieg, in 2—3 Minuten Stillstand. Bei der Konzentration 10^{-6} war die erste Wirkung bemerkbar. Lecithin zeigte die schon vielfach beschriebene positiv inotrope

Wirkung, welche beim Lecithin «*Merck*» erst von 10^{-3} bemerkbar war, beim Sojalecithin schon bei 10^{-5}. Die Emulsionen wurden durch Schütteln mit *Ringer*-Lösung hergestellt.

Der Antagonismus der beiden Substanzen am Froschherz ließ sich gut nachweisen (Fig. 5). Das molare antagonistische Verhält-

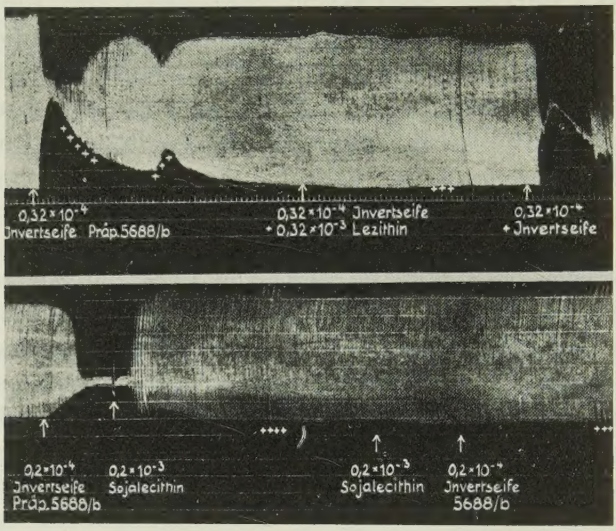

Fig. 5. Antagonismus Lecithin-Invertseife.

nis von ca. 1 : 5 entspricht dem von Baker gefundenen (1 : 6). Dabei waren die Resultate bei den drei verschiedenen Versuchsvarianten gleich. Wurde erst Invertseife und dann Lecithin gegeben, so war die Möglichkeit der Restitution zeitlich begrenzt. Wurden bei konstantem Verhältnis die Konzentrationen verändert, so blieben die Resultate wenigstens innerhalb zweier Zehnerpotenzen dieselben. Das Gemisch der Lecithinemulsion mit der Invertseife war im oben angegebenen Verhältnis trübe. Es war aber auffällig, daß der Überschuß an Invertseife die Emulsion in eine Lösung zu verwandeln vermochte. Gleichzeitig war dann auch die antagonistische Wirkung des Lecithins verschwunden. Es wurde auch versucht, wie beim Sublimat-Cystein-Antagonismus Zwischenwerte für teilweise Hemmung der Invertseifenwirkung durch kleinere Lecithinkonzentrationen zu ermitteln. Dies war nicht möglich, weil sich eine teilweise Schädigung nicht in

einer prozentualen Verminderung der Hubhöhe auswirkte, sondern in Rhythmusstörungen, die eine einfache Auswertung nicht erlaubten.

Aminoakridin und Nucleinsäure.

McIlwain (4) wies auf die Inaktivierung der Aminoakridinwirkung auf B. coli und Streptococcus haemolyticus in Gegenwart von Nucleinsäure und Adenyl- und Guanylsäure hin. Der Vorgang beruht auf einer Komplexsalzbildung. Ein Akridinsalz der Adenylsäure wurde von *Wagner-Jauregg* (14), eine komplexe Verbindung der Nucleinsäure mit Akridinderivaten von *McIlwain* (4) genauer analysiert. Das ungefähre molare Verhältnis für den Antagonismus von Aminoakridinen und Nucleinsäure an Bakterien liegt nach *McIlwain* bei 1 : 10. Für die Versuche am Froschherz wurde das m-Methoxymesoaminoakridin und als Antagonist Hefenucleinsäure (Hoffmann-La Roche), gelöst als Natriumsalz, gewählt. Das Aminoakridin zeigte am Froschherz bei der Konzentration 10^{-5} beginnende Wirkung. Auffällig war eine bald einsetzende Verlangsamung der systolischen Kontraktion und der diastolischen Erschlaffung des Ventrikels, worauf eine eigentümliche negativ chronotrope Wirkung resultierte. Bei 10^{-3} erfolgte der Stillstand in 2—3 Minuten. Übereinstimmende Befunde in der Literatur finden sich bei *Geßner* (15) und *Earl of Suffolk and Berkshire* (16). Die Nucleinsäure zeigte am isolierten Froschherz keine Wirkung.

Wurden die beiden Substanzen im Reagenzglas in antagonistischem Verhältnis gemischt, so bildete sich sogleich ein flockiger Niederschlag, die darüber stehende Lösung wurde stark entfärbt. Der Vorgang erinnert an einen von *Wels* (17) schon vor längerer Zeit beschriebenen Versuch, bei welchem durch Gewebsstückchen die Lösung eines Akridinderivates entfärbt wurde, was mit der Abnahme der baktericiden Wirkung parallel ging. Eine vollständige Entfärbung war auch durch einen großen Ueberschuß an Nucleinsäure nicht zu bewirken, dementsprechend war auch der Antagonismus am Froschherz nie vollständig (Fig. 6). Außerdem kam die Wirkung der Nucleinsäure nur zur Geltung, wenn sie vor oder gleichzeitig mit dem Aminoakridin in die Kanüle gegeben wurde. Der Stillstand oder die Schädigung des Froschherzens durch den Farbstoff ließen sich (im Gegensatz zur antibakteriellen Wirkung (*McIlwain*, 4) mit Nucleinsäure

ebensowenig wie durch Spülen umkehren. Das optimale Verhältnis lag auch bei den Versuchen am Froschherz bei 1 : 10.

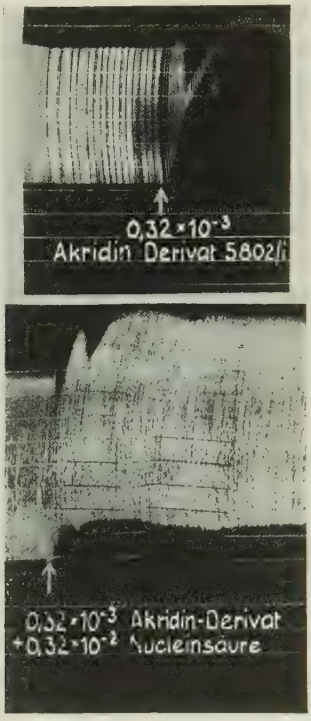

Fig. 6. Antagonismus Akridinderivat-Nucleinsäure.

Sulfanilamide und p-Aminobenzoesäure.

Der von *Woods* (1) entdeckte Antagonismus der p-Aminobenzoesäure gegen die Wirkung der Sulfanilamide auf Mikroorganismen wurde schon auf seine Nachweisbarkeit an pflanzlichen Geweben untersucht. *Wiedling* (18) fand, daß dem wachstumhemmenden Einfluß von 30 mg% Sulfanilamid auf das Sproß- und Wurzelwachstum der Keimpflanzen von Pisum durch p-Aminobenzoesäure entgegengewirkt werden kann. *Stoll* (19) verringerte die durch 200 mg% Sulfanilamid hervorgerufene Wachstumshemmung des Wurzelwachstums von Allium cepa mit einer hundertfach geringeren Menge p-Aminobenzoesäure. Hingegen ist nach *Fisher, Henry* und *Low* (20) die durch Sulfanilamid gehemmte Atmung befruchteter Seeigeleier durch p-Aminobenzoesäure unbeeinflußbar. *Rudeanu* (21) hat am isolierten Froschherz

einen Antagonismus Sulfathiazol—p-Aminobenzoesäure von ca. 10 : 1 nachgewiesen. Seine Angaben stimmen mit den im folgenden wiedergegebenen Resultaten nicht überein.

Elkosinnatrium (Dimethylpyrimidylsulfonamid) und Cibazolnatrium (Sulfathiazol) erwiesen sich für die Versuche am Froschherz wegen ihrer relativ geringen Löslichkeit und der leichten positiv inotropen Wirkung wenig geeignet. Toxischer und löslicher war das Irgafennatrium (Dimethylbenzoylsulfanilamid). Die negativ inotrope Wirkung machte sich von der Konzentration 10^{-4} an abwärts geltend. Bei 10^{-2} erfolgt der Stillstand in Diastole in ca. 15 Minuten. Die Angaben in der Literatur stimmen mit diesen Ergebnissen gut überein (*Hawking*, 22, *Mendenhall* und *Shreeve*, 23). Die p-Aminobenzoesäure beeinflußt bis zur Konzentration 10^{-3} das Froschherz in keiner Weise.

Versuche, den Antagonismus der p-Aminobenzoesäure gegen die Wirkung des Irgafens am Froschherz zu reproduzieren, verliefen bis zum molaren Verhältnis 1 : 4 völlig negativ (Fig. 7).

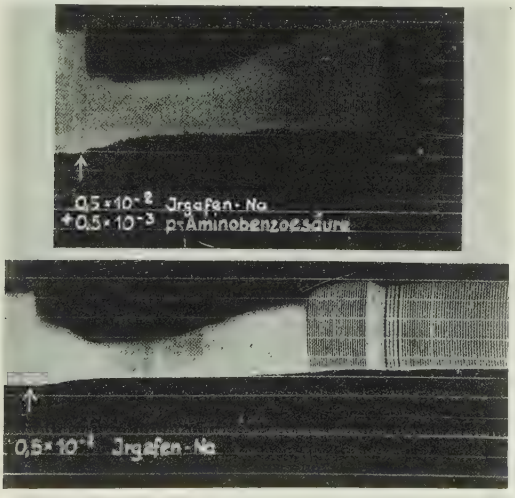

Fig. 7. Kein Antagonismus zwischen Irgafennatrium und p-Aminobenzoesäure.

Versuche mit dem Verhältnis p-Aminobenzoesäure—Irgafen 2 : 1 verliefen teils negativ teils positiv. Immerhin ist an der Spezifität dieser Erscheinung zu zweifeln, da von den antagonistischen Substanzen je 1%ige Lösungen verwendet werden mußten, wodurch normalerweise 0,69%ige *Ringer*-Lösung zu einer 1,69%igen wurde.

Natriumsalicylat und Pantothensäure.

Obwohl es unwahrscheinlich war, daß sich der von *Ivanovics* (7) für gewisse Bakterienarten beschriebene hochspezifische Antagonismus zwischen der Wirkung des Salicylat-Ions und der Pantothensäure am isolierten Organ nachweisen lasse, wurden Versuche in diesem Sinne angestellt.

Natrium salicylicum bewirkte in der Konzentration $0{,}32 \times 10^{-2}$ Stillstand in 3—5 Minuten mit nachfolgender Kontraktur (Fig. 8). Pantothensaures Natrium hat bis zur Konzentration 10^{-2} keine Wirkung. Bei keiner der drei Versuchsvarianten ließ sich irgendeine gegenseitige Beeinflussung der zwei Substanzen feststellen, und zwar hinunter bis zum Verhältnis Salicylat-Pantothenat 15 : 1 (Fig. 8). Nach *Ivanovics* ist der Antagonismus nur bei bestimmten

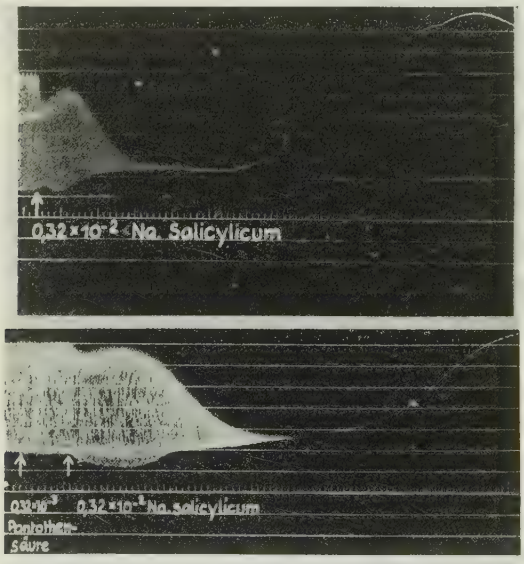

Fig. 8. Kein Antagonismus zwischen Natriumsalicylicum und Pantothensäure.

Bakterien, die «spezifisch salicylatempfindlich» sind, beispielsweise Staphyloccus aureus, nachweisbar. Diese Empfindlichkeit hängt mit der Fähigkeit zur Pantothensäuresynthese zusammen. Proteus *Morganii,* der keine Pantothensäure synthetisiert, ist wohl durch Salicylat in geeigneter Konzentration hemmbar, diese «unspezifische» Salicylatwirkung wird jedoch durch Pantothensäure nicht beeinflußt.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellten Ergebnisse zeigen eindeutig, daß bei bestimmten antibakteriellen Substanzen eine typische antagonistische Beeinflussung auch für ihre pharmakologische Wirkung am isolierten Froschherz zu erzielen ist, während bei einer anderen Grupppe ein solcher antagonisti-

Substanz	Beginn der Wirkung am Froschherz	Stillstand in maximal 5 Minuten	Antagonist. Verhältnis an Bakterien	Antagonist. Verhältnis am Froschherz
$HgCl_2$	$0{,}32 \cdot 10^{-5}$	$0{,}32 \cdot 10^{-3}$	1 : 4 $HgCl_2$—Cystein	1 : 10 $HgCl_2$-Cystein
Organische Quecksilb.-verbindung	$0{,}32 \cdot 10^{-5}$	$0{,}32 \cdot 10^{-3}$	1 : 2 Hg.Vb.—Cystein	1 : 100 Hg.Vb.-Cystein
Invertseife	10^{-6}	$0{,}32 \cdot 10^{-4}$	1 : 6 Inverts.-Lecithin	1 : 5 Inverts.-Lecithin
Akridin-derivat	10^{-5}	$0{,}32 \cdot 10^{-3}$	1 : 10 Akridinderivat-Nucleinsäure	1 : 10 Akridinderivat-Nucleinsäure
Irgafen-natrium	10^{-4}	$> 10^{-2}$	1 : 10 000 p-Aminobenzolsäure-Sulfanilamid	—
Natrium salicylic.	10^{-4}	$0.32 \cdot 10^{-2}$	1 : 40 000 Pantothensäure-Natrium salicylic.	—

scher Effekt bei der pharmakologischen Wirkung am Froschherz nicht beobachtet wird. Es fragt sich, worauf dieser Unterschied beruhen kann. Bei der p-Aminobenzoesäure und der Pantothensäure handelt es sich um einen Antagonismus von hohem Spezifitätsgrad. Er äußert sich nur bei gewissen Bakterien, seine Wirksamkeit ist vor allem abhängig von der Empfindlichkeit des Bakteriums hinsichtlich dieser Stoffe. Weiterhin ist der Effekt beim Bakterienantagonismus nur bei solchen Bakterien vorhanden, bei denen die p-Aminobenzoesäure und die Pantothensäure als essentielle Wuchsfaktoren gebraucht werden. Es handelt sich also hier offenbar beim Antagonisten um eine Substanz, die eine bestimmte Bedeutung im Stoffwechsel des Bakteriums besitzt. Es ist nicht bekannt, daß p-Aminobenzoesäure oder Pantothensäure in pharmakologischem Sinne ähnliche Bedeutung für die Zellen hö-

herer Organismen besitzen. Es ist somit die einfachste Erklärung die, daß beim Fehlen der spezifischen Wuchsstoffbedeutung der Antagonismus an den höheren Zellen des Tieres nicht zum Ausdruck kommt. Daraus könnte, allerdings mit Vorsicht, geschlossen werden, daß auch der Wirkungsangriffspunkt des Sulfonamids und der Salicylsäure an den Zellen des höheren Tieres ein anderer sein muß als derjenige an den Bakterien, daß pharmakologische und chemotherapeutische Wirkung auf verschiedenen Wegen zustandekommen. Bei den anderen Antagonismen sind die antagonistisch wirkenden Stoffe Bestandteile des tierischen Organismus und wohl auch der Bakterien, sie haben aber in beiden Fällen keine ähnliche spezifische Funktion wie z. B. die p-Aminobenzoesäure. Die quantitativen Verhältnisse des Antagonismus scheinen bei der Wirkung auf Bakterien und bei der Wirkung auf das isolierte Froschherz im wesentlichen ähnliche zu sein, wenn sie auch nicht vollkommen gleich sind. Auffällig sind die im einzelnen ungeklärten Unterschiede des antagonistischen Verhältnisses für Sublimat und organische Quecksilberverbindungen einerseits und für verschiedene Sulfhydrilkörper andrerseits. Am Froschherz und am Bakterium scheinen die Verhältnisse für die Aminoakridine und Invertseifen durchaus gleichartig zu liegen. Aus diesem Befund könnte geschlossen werden, daß der Angriffspunkt in den Bakterien und der Angriffspunkt der pharmakologischen Wirkung am Froschherz im wesentlichen gleichartig sind. Diese einfachste Erklärung muß aber nicht unbedingt zutreffend sein. Es gibt eine Reihe von Anhaltspunkten dafür, daß zwischen Sublimat und Cystein (*Shinohara,* 24; *Andrews, J. C., Wyman, P. D.,* 25) wie zwischen Invertseife und Lecithin (*Beck, E.,* 26) und dem Aminoakridin und der Nucleinsäure (*McIlwain,* 3; *Wagner-Jauregg,* 11) eine direkte chemische Reaktion zwischen dem Agens und dem Antagonisten eintritt, welche die eigentliche Ursache der ganzen antagonistischen Wirkung ist.

Gilt diese letztere Feststellung im strengen Sinne, so wird damit die Verwendung der antagonistischen Reaktionen zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus antibakterieller Stoffe erheblich eingeschränkt. Selbstverständlich muß in dem Fall, wo eine chemische Reaktion in vitro zwischen Agens und Antagonist eintritt, sich dieser Antagonismus bei beliebigen Zellarten in gleicher Weise zeigen. Es bleibt aber noch eine Möglichkeit, hier doch gewisse Schlußfolgerungen zu ziehen. Dabei ist es nicht möglich,

über die chemische Struktur des Angriffspunktes des Chemotherapeutikums oder des Desinfektionsmittels im einzelnen etwas auszusagen und diesen Angriffspunkt, wie man es vielleicht früher getan hat, als gleichartig mit der chemischen Struktur des Antagonisten anzusehen. Es ist aber vielleicht doch möglich, in funktioneller Hinsicht etwas über die Reaktionsweise der Chemoreceptoren in den Bakterien und in den Zellen zu sagen. Wird nämlich die chemische Reaktion des antibakteriellen Stoffes mit dem Antagonisten ablaufen können, so ist es sehr wahrscheinlich, daß die chemische Affinität der Angriffspunkte in den Zellen und in den Bakterien zum antibakteriellen Stoff keine größere sein kann, als die des Antagonisten, der die chemische Reaktion in vitro auslöst. Daraus kann nun weiterhin geschlossen werden, daß, wenn quantitativ gleiche Verhältnisse der antagonistischen Reaktion vorliegen, in funktionell chemischer Hinsicht, d. h. hinsichtlich der chemischen Affinität des Desinfiziens zu Reaktionsorten am Bakterium und solchen an Organzellen, keine erheblichen Unterschiede bestehen können.

Damit wäre es doch, mit Hilfe dieser Untersuchungen, möglich geworden, einen gewissen Anhaltspunkt dafür zu gewinnen, daß die Ähnlichkeit oder Gleichartigkeit des funktionellen Verhaltens des Reaktionsortes möglicherweise Ursache dafür sein kann, daß Toxizität am höheren Tier und Wirksamkeit am Bakterium von gleicher Größenordnung sind, während in den Fällen, wo eine chemische funktionelle Unterschiedlichkeit des Reaktionsortes vorliegt, ein erheblicher Unterschied dieser beiden Größen besteht.

Zusammenfassung.

Es werden die Wirkungen verschiedener antibakterieller Stoffe auf das Froschherz bestimmt und ihre Beeinflußbarkeit durch spezifische Antagonisten geprüft. Die Antagonismen lassen sich für eine Invertseife, für Sublimat und eine organische Quecksilberverbindung, sowie für ein Aminoakridin in dem bei Bakterien wirksamen Verhältnis auch am Froschherz bestätigen. Negative Resultate ergeben die Versuche mit einem Sulfanilamid und dem Natriumsalicylat und den entsprechenden Antagonisten. Für die Antagonismen, die sich auch am Froschherz in ähnlichem Verhältnis reproduzieren lassen, besteht Grund zur Annahme, daß es sich dabei um chemische Reaktionen in vitro handelt. Die hochspezifischen Antagonismen, die am Froschherz nicht reproduzier-

bar sind, erlauben dagegen wahrscheinlich direkte Schlüsse auf den Wirkungsmechanismus am Bakterium.

Résumé.

L'auteur a déterminé l'action de diverses substances antimicrobiennes sur le cœur de la grenouille et l'influence d'antagonistes spécifiques sur cette action. Pour un dérivé quaternaire de l'ammonium, le sublimé, un dérivé organique du mercure et une aminoacridine, ces antagonismes se reproduisent dans le même rapport quantitatif que chez les bactéries. Pour un sulfamidé et pour le salicylate de sodium, par contre, ce parallélisme ne joue plus. Dans la première catégorie d'antagonismes (valables aussi bien pour la grenouille que pour les bactéries) il s'agit probablement de réactions purement chimiques. Les antagonismes éminemment spécifiques de la seconde catégorie (valables seulement pour les bactéries) permettent selon l'auteur de conclure au mécanisme de l'effet antimicrobien des substances examinées.

Riassunto.

Vengono determinati gli effetti di diverse sostanze antibatteriche sul cuore della rana e viene esaminato il grado dell'influenza di antagonisti specifici. Nello stesso rapporto effettivo nei batteri, si può anche dimostrare nel cuore della rana gli antagonismi per un sapone invertito, per il sublimato ed un composto organico di mercurio come pure per un aminoacridina. Esperimenti con un sulfanilamidico ed il salicilato di sodio e con gli antagonisti adeguati danno dei risultati negativi. Per quanto riguarda gli antagonismi che si può riprodurre anche nel cuore della rana in condizione analoga, si può ammettere che si tratti di reazioni chimiche in vitro. Dagli antagonismi di alta specificità non riproducibili nel cuore della rana si può invece probabilmente trarre delle conclusioni sul meccanismo di azione.

Summary.

The action of various antibacterial substances on the frog's heart and their inhibition by specific antagonists has been studied. The antagonisms of a detergent, of $HgCl_2$, of an organic mercury compound and of an aminoacridine proved as efficient for the frog's heart as for bacteria. This parallelism did not obtain, however, in

the case of sodium salicylate and of a sulfonamide derivative. There is reason to believe that the antagonisms of the first kind are brought about by a purely chemical reaction. The highly specific antagonisms of the second kind, which do not apply to the frog's heart, are probably directly related to the mode of antibacterial action of the antagonized substances.

Literatur.

1. *Woods, D. D.*, Brit. J. exper. Path. 21, 74, 1940. — 2. *Fildes, P.*, Brit. J. exper. Path. 21, 67, 1940. Lancet I/1940, 955. — 3. *Baker, Z.*, J. exper. Med. 74, 621, 1941. — 4. *McIlwain, H.*, Biochem. J. 35, 1311, 1941. — 5. *Massart, L., Peeters, G., de Ley, I., Vercauteren, R.*, Experientia, Vol. III, Fasc. 3, S. 119, 1947. — 6. *Bichowski, L.*, Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 57, 163, 1944. — 7. *Ivanovics, G.*, Ztschr. f. physiol. Chem. 276, 33, 1942; Ztschr. f. Immunitätsforsch. 102, 238, 1943. — 8. *Meier, R.*, Schw. Ztschr. f. Path. u. Bakt. 9, 325, 1946. — 9. *Voegtlin, C., Dyer, Leonhard*, Publ. Health Rep. 38, 1882, 1923. — 10. *Johnston, R. L.*, J. Lab. and Clin. Med. 27, 303, 1941. — 11. *Long, W. K., Farah, A.*, J. Pharmac. and exper. Therap., Vol. 88, Nr. 4, 388, 1946. — 12. *Kuhn, R.*, u. *Bielig, H. J.*, Ber. chem. Ges. 73, 1080, 1940. — 13. *Roth, H. L.*, Diss. Basel 1935. — 14. *Wagner-Jauregg, Th.*, Ztschr. f. physiol. Chem. 239, 188, 1936. — 15. *Geßner, C.*, Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 142, 62, 1929. — 16. *Earl of Suffolk and Berkshire*, Quart. J. exper. Physiol. 29, 1, 1939. — 17. *Wels, F.*, Ztschr. f. exper. Med. 28, 347, 1922. — 18. *Wiedling, S.*, Naturwiss. 13, 114, 1943. — 19. *Stoll, R.*, Compt. rend. Soc. Biol., Paris 137, 170, 1943, cit. nach Rona's Berichten 134, S. 61. — 20. *Fisher, Henry, Low*, J. Pharmacol. 81, 58, 1944; cit. aus Ann. Rev. of Physiol., Vol. VIII, 578, 1946. — 21. *Rudeanu, A.*, Bull. Acad. Med. Roumanie, 14, 470, 1942. — 22. *Hawking, F.*, Lancet II/1937, 1019. — 23. *Mendenhall, W. L.*, u. *Shreeve, K. E.*, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 42, 317, 1939. — 24. *Shinohara, K.*, J. biol. Chem. (Am.) *112*, 671, 1936. — 25. *Andrews, J. C., Wyman, P. D.*, J. biol. Chem. (Am.) *87*, 427, 1930. — 26. *Beck, E.*, Diss. Basel 1947.